



## Quan-T-Cell SARS-CoV-2 & Quan-T-Cell-ELISA



- Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) Release Assay (IGRA) zur quantitativen Bestimmung der IFN- $\gamma$ -Freisetzung durch SARS-CoV-2-spezifische T-Zellen
- Unterstützt den Nachweis eines zurückliegenden Erregerkontakts mit SARS-CoV-2 oder einer Immunreaktion infolge einer COVID-19-Schutzimpfung
- Bereits in der Forschung etabliert – hohe Qualität in zahlreichen Studien bestätigt
- Vollautomatisierbare Abarbeitung und Auswertung des Quan-T-Cell-ELISA zur IFN- $\gamma$ -Quantifizierung

### Technische Daten

<b>Beschichtung</b>	Stimulationsröhrchen: (1) CoV-2 IGRA BLANK: keine aktivierenden Bestandteile, (2) CoV-2 IGRA TUBE: S1-basierte Antigene, (3) CoV-2 IGRA STIM: Mitogen; ELISA: Monoklonaler Anti-IFN- $\gamma$ -Antikörper
<b>Kalibrierung</b>	Quantitativ, in Milli-Internationalen Einheiten pro Milliliter (mIE/ml), 6 Kalibratoren EUROIMMUN schlägt folgende Befundinterpretation vor: negativ: < 100 mIE/ml grenzwertig: 100–200 mIE/ml positiv: > 200 mIE/ml
<b>Probenverdünnung</b>	Stimulationsröhrchen: je 500 $\mu$ l humanes Heparin-Vollblut; ELISA: 100 $\mu$ l mittels Quan-T-Cell SARS-CoV-2 gewonnenes Heparin-Plasma, 1:5 verdünnt in Probenpuffer
<b>Reagenzien</b>	ELISA: Gebrauchsfertig, Ausnahmen: Waschpuffer (10x) sowie Kalibratoren und Kontrollen (lyophilisiert); farbcodierte, gegen die anderer EUROIMMUN-ELISA-Testsätze weitgehend austauschbare Lösungen
<b>Testablauf</b>	Stimulation: 20–24 h bei +37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, manuell; ELISA: 120 min/30 min/30 min/20 min bei Raumtemperatur (Proben-/Biotin-/Konjugat-/Substratinkubation), vollautomatisierbar
<b>Messung</b>	ELISA: 450 nm, Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm
<b>Packungsformat</b>	<b>Quan-T-Cell SARS-CoV-2:</b> 30 Stimulationsröhrchen-Sets (3 Röhrchen je Set) <b>Quan-T-Cell-ELISA:</b> 96 vereinzelbare Reagenzgefäße, inklusive aller erforderlichen Reagenzien
<b>Bestell-Nr.</b>	<b>ET 2606-3003 (Quan-T-Cell SARS-CoV-2)</b> <b>EQ 6841-9601 (Quan-T-Cell-ELISA)</b> Nur in Kombination zu verwenden!

### Klinische Bedeutung

SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2*) gehört zur Familie der Coronaviren, Gattung *Betacoronavirus*, und ist ursächlicher Erreger von COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*). SARS-CoV-2 wird hauptsächlich durch respiratorische Aufnahme virushaltiger Tröpfchen und Aerosole übertragen, die beim Sprechen, Atmen, Husten und Niesen entstehen. Die Inkubationszeit des SARS-CoV-2 beträgt 3 bis 7, maximal 14 Tage. Die Infektion kann sowohl asymptomatisch verlaufen als sich auch durch Symptome einer fieberhaften Erkrankung mit unregelmäßigen Lungeninfiltraten äußern. Ein Teil der Patienten, vor allem alte und chronisch kranke Menschen, entwickelt ein akutes Atemnotsyndrom (*Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS*).

Zur Diagnose einer SARS-CoV-2-Infektion sind der Nachweis von viraler RNA über Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) oder von Virusprotein im ELISA oder Schnelltest geeignete Verfahren. Die Bestimmung von Antikörpern ermöglicht die Bestätigung von SARS-CoV-2-Infektionen bei Patienten mit typischen Symptomen und bei Verdachtsfällen und trägt zu Monitoring und Ausbruchskontrolle bei. Etwa 90% der SARS-CoV-2-Infizierten entwickeln bis zum Tag 10 nach Symptombeginn spezifische Antikörper. Ebenso bilden COVID-19-Patienten häufig SARS-CoV-2-reaktive IFN- $\gamma$ -freisetzende T-Zellen.

Das Zytokin IFN- $\gamma$  hat eine zentrale Rolle bei der Abwehr von Viren und Mikroorganismen. Es aktiviert u. a. Makrophagen und stimuliert die spezifische zytotoxische Immunität. IFN- $\gamma$  erscheint früh im Infektionsgeschehen – vor dem Auftreten der antigenspezifischen adaptiven Immunantwort. Die Beständigkeit SARS-CoV-2-spezifischer T-Zellen ist noch nicht geklärt, aktuelle Daten und Erfahrungen mit anderen humanen Coronavirus-Infektionen zeigen jedoch das Potenzial für ihre Persistenz und ihre Fähigkeit, die virale Replikation und die Erkrankung des Wirts zu kontrollieren, sowie ihre Bedeutung für den induzierten Schutz durch Impfung.

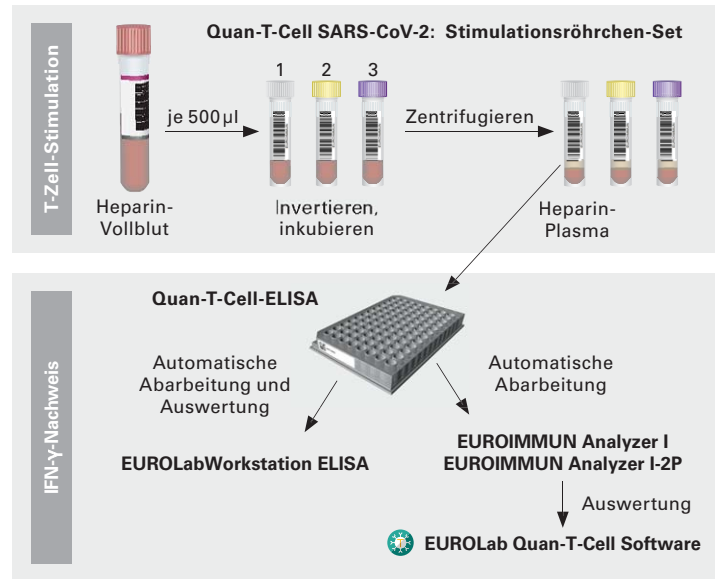


## Testprinzip

Das Testprinzip beruht auf der immunologischen Testmethode des Interferon-gamma Release Assay (IGRA), bei dem freigesetztes IFN- $\gamma$  nach einer erregerspezifischen Stimulation von Immunzellen quantifiziert wird.

Die Quan-T-Cell-SARS-CoV-2-Packung enthält 30 Stimulationsröhrchen-Sets bestehend aus jeweils drei Stimulationsröhrchen je Vollblutprobe: (1) **CoV-2 IGRA BLANK**: Keine T-Zell-Stimulation, zur Bestimmung des individuellen IFN- $\gamma$ -Hintergrunds; (2) **CoV-2 IGRA TUBE**: Spezifische T-Zell-Stimulation durch Antigene auf Basis des SARS-CoV-2-Spike-Proteins; (3) **CoV-2 IGRA STIM**: Unspezifische T-Zell-Stimulation durch ein Mitogen, zur Kontrolle der Stimulationsfähigkeit.

Frisches humanes Vollblut aus einem Heparin-Blutentnahmeröhrchen wird in diese drei Stimulationsröhrchen pipettiert und inkubiert. Sind stimulierbare Immunzellen vorhanden, werden diese während der Inkubation zur IFN- $\gamma$ -Sekretion aktiviert. Nach der Inkubation erfolgt eine Zentrifugation zur Gewinnung von stimuliertem Heparin-Plasma, welches unmittelbar zur Bestimmung der IFN- $\gamma$ -Konzentration im Quan-T-Cell-ELISA eingesetzt oder für spätere Analysen gelagert werden kann.



## Klinische Leistung

Zur Bestimmung des Cut-Offs und Ermittlung der klinischen Leistung des Quan-T-Cell-ELISA (EUROIMMUN-Best.-Nr. EQ 6841-9601) in Kombination mit dem Quan-T-Cell SARS-CoV-2 (EUROIMMUN-Best.-Nr. ET 2606-3003) wurden insgesamt 160 Heparin-Vollblutproben von gesund erscheinenden Blutspendern (UKSH Lübeck, Transfusionsmedizin) untersucht. Nach Stimulation mit dem Quan-T-Cell SARS-CoV-2 wurde die Konzentration des durch die Stimulation sekretierten IFN- $\gamma$  in den gewonnenen Plasmen mittels Quan-T-Cell-ELISA bestimmt. Zusätzlich wurden die Proben für die Bestimmung des Anti-SARS-CoV-2-Antikörperstatus der Blutspender mittels zweier CE-gekennzeichneter Antikörpertests, Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgA) (EUROIMMUN-Best.-Nr. EI 2606 A) und Anti-SARS-CoV-2-Quantivac-ELISA (IgG) (EUROIMMUN-Best.-Nr. EI 2606-10 G) eingesetzt, um einen zurückliegenden Erregerkontakt mit SARS-CoV-2 oder eine Immunreaktion infolge einer COVID-19-Impfung festzustellen. Proben, die in beiden Antikörpertests übereinstimmend positive bzw. negative Ergebnisse erzielten, wurden als „positiv“ (n=16) bzw. „negativ“ (n=144) vorcharakterisiert. Proben mit uneindeutigen, grenzwertigen oder nicht validen Ergebnissen wurden in der folgenden Auswertung nicht berücksichtigt.

Der empfohlene obere Grenzwert des Normalbereiches (Cut-Off) des Quan-T-Cell-ELISA in Kombination mit dem Quan-T-Cell SARS-CoV-2 wurde anhand von 114 negativen Proben definiert und auf 200 mIE/ml festgelegt.

Anschließend wurden anhand von 16 positiven bzw. 30 negativen Proben die positive und negative Übereinstimmung des Quan-T-Cell-ELISA in Kombination mit dem Quan-T-Cell SARS-CoV-2 ermittelt.

Es ergab sich eine **positive Übereinstimmung von 93,8%** (15/16) und eine **negative Übereinstimmung von 96,7%** (29/30).

## Literatur

Huzly D, et al. **Validation and performance evaluation of a novel interferon-release assay for the detection of SARS-CoV-2 specific T-cell response.** medRxiv 2021.07.17.21260316 (2021).

Schwarz T, et al. **Delayed Antibody and T-Cell Response to BNT162b2 Vaccination in the Elderly, Germany.** Emerg Infect Dis 27(8):2174-2178 (2021).

Hillus D, et al. **Safety, reactogenicity, and immunogenicity of homologous and heterologous prime-boost immunisation with ChAdOx1 nCoV-19 and BNT162b2: a prospective cohort study.** Lancet Respir Med (2021). Online ahead of print.